

干旱对梨树叶片质膜氧化还原系统的影响

王国泽¹, 刘永臣²

(1. 内蒙古科技大学 生物与化学工程学院, 内蒙古 包头 014010;

2. 内蒙古医学院 第四附属医院麻醉手术科, 内蒙古 包头 014032)

摘要:对苹果梨和杜梨两种梨树叶片的质膜氧化还原系统进行了研究。研究表明, 干旱使梨幼树叶片质膜 NADH(还原性辅酶 I) 和 NADPH(还原性辅酶 II) 的氧化速率及 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 的还原速率降低。在干旱胁迫时, GSH(谷胱甘肽)和 Vc(抗坏血酸)的氧化速率却明显增加, 表明除了 NADH 和 NADPH 外, GSH 和 Vc 也可以作为质膜氧化还原系统的电子供体。进一步而言, 在水分胁迫条件下, GSH 和 Vc 可能是代替 NADH 和 NADPH 的质膜氧化还原系统的电子供体。

关键词: 水分胁迫; 梨幼树叶片; 质膜氧化还原系统

中图分类号: S661.201 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)06-0127-03

The Influence of Drought for Redox System of Plasmic Membrane on Pear Tree

WANG Guo-ze¹, LIU Yong-chen²

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China; 2. Department of Anaesthesia, The Fourth Attached Hospital to Inner Mongolia Medical College, Baotou 014032, China)

Abstract: The basic physiological index of redox system of plasmic membrane were studied on two variety of pear, *Pyrus ussuriensis* Var. *Ovoidea* and *P. betulifolia*, Bge. The result showed that drought could reduce both the oxidation rate of NADH and NADPH and the deoxidation rate of EDTA-Fe^{3+} and $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ of plasmic membrane. When water stress occurred, the oxidation rate of GSH and vitamin C (Vc) obviously increased, which indicated that GSH and Vc could be as electron donor of redox system of plasmic membrane besides NADH and NADPH. Probably under the water stress condition, GSH and Vc could replace NADH and NADPH, acting as electron donor of redox system of plasmic membrane.

Key words: Water stress; The leaf of young tree of pear; Redox system of plasmic membrane

干旱是我国果树面临的主要生长限制因子之一。植物抗旱性是一个极其复杂的现象, 它既包括植物抵抗水分亏缺的能力, 也包括植物从干旱缺水的土壤中吸取水分的能力^[1]。分子生物学技术的迅速发展补充了植物抗旱性研究的两个方面: 一是形态解剖的反应和适应性; 二是植物生理反应和适应性, 并使研究者对质膜氧化还原系统有了新的认识。植物细胞质膜中存在氧化还原系统, 它可能和质膜 H^+ -ATPase 共同参与跨膜质子电动势的建立, 并与植物生长发育、质子分泌以及细胞壁合成等生理生化过程相关联^[2]。研究者曾发现萝卜细胞氧化还原系统对盐胁迫极为敏感: 质膜 NADH 氧化、还原及

H^+ 分泌等受到抑制, 同时, 细胞生长也受到影响。但是关于水分胁迫对果树叶片质膜氧化还原系统的影响报道甚少。梨是落叶果树中的重要树种之一, 栽培范围广泛, 有相当大的面积分布在干旱半干旱地区。因此以梨为试材进行抗干旱研究具有重要意义。本研究以梨幼树为材料, 探讨水分胁迫对叶片氧化还原系统的影响, 从而为抗旱基因工程提供基础理论, 最终培养出工程抗旱品种。

1 材料和方法

1.1 试材

供试的 2 个不同梨种类, 即不抗旱的苹果梨

收稿日期: 2007-01-18

基金项目: 内蒙古科技大学校内基金项目 (00605302)

作者简介: 王国泽(1975-), 女, 内蒙古赤峰人, 讲师, 博士, 主要从事食品营养与安全方向的研究。

(*Pyrus ussuriensis* Var. *Ovoidea*) 和抗旱的杜梨(*P. betulifolia*. *Bqe*) 二年生盆栽幼树。试验于内蒙古巴彦淖尔市临河果园进行。

1.2 盆型与填充料

采用上口直径 30 cm, 下底直径 20 cm, 高 40 cm 的瓦盆, 填充料为田间自然土, 装土量为 10 kg/ 盆。

1.3 试验处理及取样

选择整齐一致的苹果梨和杜梨二年生幼树, 于 4 月 1 日定植于盆内, 正常管理。5 月 20 日开始预备试验。5 月 30 日试材置于防雨棚内, 保持良好的光照与通风。试验设置正常管理(对照)和施旱两种处理。干旱处理根据土壤含水量和叶片组织相对含水量随时间延长下降程度不同设置正常管理(对照), 轻度胁迫, 中度胁迫和严重胁迫 4 个水平, 设 3 次重复。试验自 6 月 1 日开始, 至 7 月 25 日结束, 共进行 4 次。分别为 6 月 1 日(对照), 6 月 10 日(轻度胁迫), 6 月 18 日(中度胁迫), 6 月 30 日(严重胁迫)取样。第 2 次至第 4 次试验处理和对照同时取样。用于测试的叶样取新梢基部第 5, 6, 7 片。

1.4 测定方法

质膜的分离及提纯采用焦新之等^[3]的方法; NADH 和 NADPH 氧化速率的测定采用焦新之等^[4]的方法; $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 还原速率的测定采用陈思学等^[5]的方法; GSH 和 Vc 氧化速率的测定: GSH 测定方法同 NADH, 用 GSH 代替 NADH, 波长为 420 nm; Vc 测定方法同 GSH, 用 Vc 代替 GSH^[4]。

2 结果与分析

2.1 干旱对 NADH 和 NADPH 氧化速率的影响

如表 1 所示, 苹果梨和杜梨表现出一致的变化趋势。NADH 和 NADPH 的氧化速率是在轻度胁迫以后, 对初期轻微的胁迫不敏感。这可能是在干旱初期, 细胞内的保护酶类活性增加, 使细胞能维持正常的代谢而保证较高的 NADH 和 NADPH 水平。但随着胁迫强度的增加, 细胞内产生较多的自由基, 是

代谢失调、质膜受到损伤、呼吸作用减弱而使电子供体 NADH 和 NADPH 含量下降所致。试验结果还表明: 苹果梨和杜梨 NADH 和 NADPH 氧化速率的变化幅度存在明显的差异。耐寒的杜梨在干旱初期, 其氧化速率基本没有多大的变化, 在以后的胁迫进程中, 尽管其氧化速率有所下降, 但是比较平缓。而不耐寒的苹果梨在干旱初期呈上升趋势, 随着干旱的加重氧化速率明显下降。

表 1 水分胁迫对 NADH 与 NADPH 氧化速率的影响

处理 Treatment	nmol/ (mg•min)			
	苹果梨 <i>Pyrus ussuriensis</i> Var. <i>Ovoidea</i>		杜梨 <i>P. betulifolia</i> . <i>Bqe</i>	
	NADH	NADPH	NADH	NADPH
对照	210. 34A	108. 46A	186. 32A	84. 46A
轻度胁迫	236. 42A	119. 68A	201. 22A	101. 2A
中度胁迫	67. 47B	48. 00B	59. 32B	52. 11B
重度胁迫	51. 32B	32. 11B	50. 00B	40. 16B

注: * LSR 0. 01(k, df) = SSR 0.01(k, df) • Sx, 下同

2.2 干旱对 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 还原速率的影响

水分胁迫对质膜氧化还原系统的影响还表现在对 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 还原速率的影响。从表 2 可以看出, 以 NADH 作为电子供体时的 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 的还原速率均受到影响。在轻度胁迫之前, 其还原速率下降比较缓慢, 但是, 从轻度胁迫到中度胁迫这一过程, 其还原速率急剧下降。在中度胁迫以后, 其还原速率又平缓下降。 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-e^{3+} 作为电子受体在干旱进程中还原速率下降, 这可能是由于在水分胁迫下生物氧化过程受阻, 其质膜上的一些电子传递体合成减弱, 分解加快, 从而使电子传递受阻, 酶活性下降, 以至于使 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 的还原速率降低。抗旱的杜梨在整个胁迫过程中其电子受体还原速率的下降幅度低于苹果梨。从以上研究可看出, 杜梨在胁迫进程中受害程度低于苹果梨。

表 2 水分胁迫对 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 与 EDTA-Fe^{3+} 还原速率的影响

处理 Treatment	苹果梨 <i>Pyrus ussuriensis</i> Var. <i>Ovoidea</i>		杜梨 <i>P. betulifolia</i> . <i>Bqe</i>	
	$\mu\text{mol/ (mg}\cdot\text{min)}$			
	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$	EDTA-Fe^{3+}	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$	EDTA-Fe^{3+}
对照	521. 00A	492. 36A	420. 23A	396. 42A
轻度胁迫	492. 63A	463. 21A	398. 26A	345. 42A
中度胁迫	136. 36B	136. 20B	158. 21B	132. 21B
重度胁迫	92. 36B	102. 36B	132. 21B	140. 20B

2.3 水分胁迫对 GSH 和 Vc 氧化速率的影响

从表 3 可以看出, 干旱进程中苹果梨和杜梨的

GSH 和 Vc 氧化速率变化趋势是一致的。在胁迫初期, 其氧化速率均缓慢上升, 但随着胁迫程度的增

加,其氧化速率急剧升高。从本试验也可以看出:虽然两种梨树的 GSH 和 Vc 氧化速率随着胁迫程度的增加其变化规律基本相同,但其变化幅度因为种类的不同而存在差异。杜梨在整个胁迫过程中 GSH 和 Vc 的氧化速率均明显高于苹果梨。可见在干旱进程中作为质膜氧化还原系统的天然电子供体,其

氧化速率升高。究其原因,可能是为了保证电子的正常传递,来适应干旱。抗旱品种杜梨对干旱由于具有较强的抵御能力和适应机制,所以 GSH 和 Vc 作为电子供体时其氧化速率增加迅速,而不抗旱的苹果梨则恰好相反。

表 3 水分胁迫对 GSH 和 Vc 氧化速率的影响

Tab. 3 The influence of water stress on the oxidation rate of GSH and Vc

材料 Materials	GSH 的氧化速率/($\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$)				Vc 的氧化速率/($\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$)			
	对照	轻度	中度	重度	对照	轻度	中度	重度
苹果梨 <i>Pyrus ussuriensis</i> Var. <i>Ovoidea</i>	59.81A	67.23A	89.11B	101.00B	42.31A	49.78A	67.56B	89.57B
杜梨 <i>P. betulifolia</i> . Bq	58.46A	60.57A	69.86A	74.57A	42.10A	47.86A	58.58B	67.87B

3 讨论与结论

植物细胞质膜氧化还原系统的组成排列方式以及生理功能等诸方面尚有许多不清楚之处,但是根据已有的研究资料可以确定在体内和体外,质膜具有催化多种氧化还原反应的活性。最常使用的电子供体是 NAD(P)H 和亚铁氰化物,电子受体是铁氰化物和 Fe^{3+} -EDTA。本试验发现水分胁迫也影响质膜氧化还原系统的运转,使质膜的 NADH 和 NADPH 以及 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 的还原都大幅度下降(表 1, 2)。水分胁迫引起的 NADH 和 NADPH 氧化速率降低的程度相似,暗示水分胁迫对 NADH 和 NADPH 氧化的影响机制可能相同。

Mcpller 和 Crane^[6]研究表明,质膜氧化还原系统是多途径的:通常以 NADH 和 NADPH 为电子供体,还原 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$,但不能还原 EDTA-Fe^{3+} ,被称为标准系统,缺铁可以诱导另一种为 Turbo 系统的质膜氧化还原系统,该系统以 NADH 为电子供体,还原 EDTA-Fe^{3+} 和 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 。表 2 的研究结果表明,在以 NADH 为电子供体时, EDTA-Fe^{3+} 和 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 都可以作为电子受体被还原,却不需要经过缺铁培养。显然,本试验获得的质膜氧化还原系统与 Mcpller 等提出的标准系统和 Turbo 系统不同。Misra^[7]研究表明,除 NADH 和 NADPH 外,GSH 和 Vc 也可以作为质膜氧化还原系统的电子供体。本试验还发现随着胁迫程度的增加 GSH 和 Vc 的氧化速率均增加,所以可能是在水分胁迫下 GSH 和 Vc 是 NADH 作为质膜氧化还原系统电子供体的替代物质,至于是否还有其他物质,尚需进一步研究。

本试验中,我们参照胁迫严重程度和时间进程研究了不同梨种类对水分亏缺的反应性和适应性,同时发现了抗旱性较强的杜梨与抗旱较弱的苹果梨对水分亏缺反应程度的差异。并在试验中发现质膜氧化还原系统中 NADH 和 NADPH 的氧化速率、 EDTA-Fe^{3+} 和 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的还原速率变化能力不同是以上差异之一。但就质膜氧化还原系统与抗旱力的关系而言,尚需进一步研究。

参考文献:

[1] 山 仓.植物水分亏缺和半干旱地区农业生产中的植物水分问题[J]. 植物生理生化进展, 1983(1): 108-119.

[2] Oren-Shamir M, Pick U, Avron M. Involvement of the plasma membrane ATPase in the osmoregulatory mechanism of the alga *Dunaliella salina* [J]. Plant Physiol, 1989(89): 1258-1263.

[3] 焦新之,李 琳,倪晋山.花生幼苗下胚轴质膜氧化还原系统[J]. 植物生理学报, 1992, 18(1): 63- 70.

[4] 焦新之,李 琳,黄丽萍,等.花生下胚轴组织 H^{+} 分泌与质膜氧化还原系统的某些特性[J]. 植物生理学报, 1991, 17(1): 49- 55.

[5] 陈思学,李 琳,颜季琼,等.杜氏盐藻细胞质膜氧化还原系统与 K^{+} 吸收[J]. 植物学报, 1996, 38(4): 295-301.

[6] Mcpller I M, Crane F L. Redox processes in the plant plasma membrane [M] // Larsson C, Moller I M. The Plant Plasma Membrane: Structure, Function and Molecular Biology. Springer-Verlag, Berlin, 1990.

[7] Misra P C. Transplasma membrane electron transport in plants [J]. J Bioenerg Biomemb, 1991(23): 425- 442.